

*Serratia marcescens*의 Prodigiosin 색소형성에 미치는 당과 무기인산의 영향

이기성¹ · 송인근 · 조홍범² · 박영식 · 최영길*

* 배재대학교 이공대학 생물학과, ²서경대학교 생물공학과
한양대학교 자연과학대학 생물학과 서울대학교 분자미생물학연구센터

당과 인산의 첨가 또는 결핍 배양하에서 *Serratia marcescens*의 색소 변화 양상을 무기인산 중합체의 세포내 축적양상과 관련지어 해석하고자 하였다. 전배양된 세포(St)에 비하여 당과 인산을 동시에 결핍시킨 세포(S⁻P⁻)에서 산가용성 무기인산중합체와 산불용성 무기인산 중합체가 모두 증가하였다. 그러나 당과 인산을 결핍 배양시킨 세포(S⁻P⁻)를, 당은 첨가하고 인산을 결핍(S^{+P⁻}) 또는 첨가(S^{+P⁺})하여 배양한 결과, S^{+P⁻} 세포에서는 산가용성, 산불용성 무기인산중합체의 축적량이 감소하였으나 S^{+P⁺} 세포에서는 그들의 축적량이 모두 증가하였다. 색소 형성의 변화를 살펴보면 전배양된 세포(St)와 당과 인산 결핍 배양세포(S⁻P⁻)에서 나타나지 않던 3종류의 색소가 S^{+P⁺} 세포, S^{+P⁻} 세포에서 매우 특이하게 생성되었을 뿐만 아니라 색소형성이 전반적으로 증가하였다. 따라서 당과 인산을 동시에 결핍시킨 배지에서 굽긴 후, 인산첨가, 결핍에 관계없이 당이 첨가된 배지에 옮겨 배양할 경우 prodigiosin 색소는 물론 다양한 색소 유도체의 합성이 증가됨을 알 수 있었다.

KEY WORDS □ *Serratia marcescens*, pigmentation, polyphosphate, prodigiosin, starvation

대부분의 *Serratia marcescens*들은 직선형의 tri-pyrrole 구조를 갖는 붉은 색의 prodigiosin(2-methyl-3-amyl-6-methoxypyrodiolene)을 형성한다. Prodigiosin은 2가지의 색소전구체, 즉 monopyrrole인 MAP(2-methyl-3-amylpyrrole)과 bipyrrrole인 MBC(4-methoxy-2'-bipyrrrole-5-carboxy-aldehyde)가 각각 다른 생합성 경로를 통하여 만들어진 후 최종적으로 prodigiosin condensing enzyme(PCE)에 의하여 축합되어 합성되는 것으로 알려져 있다(5, 6, 9, 20, 24, 25).

Prodigiosin은 *Serratia marcescens*의 이차대사산물로 쉽게 분석되어지고 세균에서의 이차대사산물의 발현기작을 연구하는데 model system으로의 유용 가능성이 있다(5). Prodigiosin에 대한 연구는 색소형성에 미치는 금속이온의 영향(20, 25)과 계면활성제의 영향(13, 20) 등이 있다. 그러나 생물체의 세포내에서 생리기능에 상당한 비중을 차지하는 인산화합물이 이들 색소의 합성에 어떠한 영향을 미치는가에 대해서는 알려진 바가 없다. 무기인산중합체의 세포내 기능은 매우 다양하여 gene의 derepression에 관여하고 핵내의 RNA 합성과정에 무기인산을 공급하기도 한다(26). 근래에는 세균에서 물질대사과정의 조절자로서 뿐만 아니라 중금속에 대한 적응·해독기작에도 관여한다는 보고가 있다(1, 15, 16). 특히 하등한 미생물에서 고등 동식물에 이르기까지 인산화합물 중 생물체내에서 일어나는 인산화반응에 중요한 역할을 하는 무기인산중합체가 존재하는 생물체는

매우 다양하다(11).

본 연구에서는 당과 또는 인산을 첨가 또는 결핍 배양시켰을 때 나타나는 *Serratia marcescens*의 색소 형성 변화양상을 무기인산중합체의 세포내 축적변화 및 효소활성도와 관련지어 해석하고자 하였다.

재료 및 방법

균주 및 배양

본 실험에 사용한 균주는 한양대학교 생물학과 미생물 연구실에서 분리하여 보관중인 *Serratia marcescens* strain P를 실험 균주로 사용하였다.

*Serratia marcescens*의 전배양은 nutrient agar 배지(Difco)를 사용하여 30°C에서 행하였고 이후 당과 인산결핍 배양에 따른 영향을 조사하기 위해 무기인산의 농도를 임의로 조정할 수 있는 Knopp's 최소 배지를 이용하였다(12, 17, 18). 다량 전배양되어진 세포(St. 배양군)를 starvation시킬 목적으로 Knopp's 최소 배지[glucose 15 g, KH₂PO₄ 0.25 g, Ca(NO₃)₂ 1 g, MgSO₄·7H₂O 0.25 g, KCl 0.12 g, FeCl₃ trace per D.W. 1 l]에서 당과 인산원인 glucose와 KH₂PO₄를 결핍시켜 6시간 동안 자석교반기로 혼탁시키면서 생육하였다. 다음으로 starvation시킨 세포(S⁻P⁻ 실험군)를 당과 인산이 함유된 Knopp's 최소 배지에서 3시간(S^{+P⁺}, 3 hr), 6시간(S^{+P⁺}, 6 hr) 배양하였고 일부는 당만 함유하고 인산은 결핍시킨 Knopp's 최소 배지에서 3시간(S⁻P⁺, 3 hr), 6시간(S⁻P⁺, 6 hr) 배

양하였다.

인산화합물의 분획

배양시기, 조건에 따른 실험군주의 인산화합물 함량은 전보(12, 14, 15)들의 방법대로 추출, 정량하여 조사하였다. 즉 무기인산중합체는 Miyachi와 Tamaya(21) 방법에 의거하여 분획, 추출하였으며 ortho-P는 Berenblum과 Chain(3)의 방법에 따라 추출하였다. 분획된 인산화합물은 Fiske와 Subbarow(8) 방법으로 정량하였다.

효소의 활성도 측정

Alkaline phosphatase(ALPase), acid phosphatase(ACPase), neutral phosphatase(NEPase), polyphosphatase 등의 효소활성도 측정은 전보(14, 15, 16, 18, 19)에서 시행한 방법을 사용하였다. 즉 세포의 마쇄는 Hughes(10) 방법에 따라, ALPase, ACPase, NEPase 활성도는 Ernst(7) 방법에 의거하고 polyphosphatase 활성도는 Rubtsolv와 Kulav(23) 방법에 의거하여 측정하였다.

Alkaline phosphatase의 isoenzyme 분석

세포의 ALPase isoenzyme pattern은 이와 최(17)의 방법을 이용하여 분석하였다. 시료의 조제는 마쇄된 세포추출액에 NaCl은 0.1 M, Triton X-100은 1%의 농도가 되도록(22) 가한 후 다시 초음파로 마쇄하고 원심분리(12,000 rpm, 10분)하여 상동액을 시료로 사용하였다. 이 시료에 EDTA, glycerol, bromophenol blue를 가하여 전기영동용 시료를 조제하였고, stacking gel은 2.5%, separating gel은 7%로 조제하여 2 mA/well로 전영동을 행한 후 5 mA/well로 전기영동하였다. 영동용 완충용액은 0.01 M Tris-glycine buffer(pH 8.3)를 이용하였다.

영동이 끝난 후 ALPase isoenzyme의 분석은 Clark 등(4)이 행한 방법으로 ALPase의 기질인 p-NPP를 피복시키고 30분~1시간 동안 37°C에서 반응시킨 후 나타나는 노란색 band를 확인하였다.

색소의 추출 및 분리

여러 배양조건에 따른 세포를 적당 수확하여 이(14)가 행한 Bligh와 Dyer(1959)의 지질추출 방법을 변형하여 색소를 추출하였다. 마쇄된 각 실험구간 세포에 methanol 1 ml를 가하고 30초간 혼합한 후 chloroform 1 ml를 가하여 vortex mixer로 잘 섞었다. 그 다음 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 chloroform 층만을 취하여 40°C에서 질소 가스로 농축시켰다. 여기에 chloroform 한 방울을 떨어뜨려 TLC용 시료로 이용하였다. TLC plate는 precoated silica gel GF 254 (Sigma, 250 μm thick, 20×20 cm)를 사용하였고 전개용매는 chloroform/methanol/water (65/25/4, v/v/v)를 사용하여 전개시켰다. 전개 후 실온에서 건조시킨 다음 색소의 발색을 위해 ammonium molybdate perchlorate reagent(Hane's Reagent)를 분무하고 110°C dry oven에서 5~10분 반응시켰다.

결과 및 고찰

무기인산 중합체의 축적량 변화 양상

전배양 세포군(St)과 starved 세포군(S P), 무기인산의 첨가(S⁺P⁻) 및 제한 배양 세포군(S⁻P⁻) 각각의 세포내 무기인산중합체 축적량 변화양상을 조사한 결과 산가용성무기인산과 산불용성 무기인산 모두 전배양된 정상세포군에서보다 starved 세포(S⁻P)에서 증가하였다(Fig. 1). 그러나 starved 세

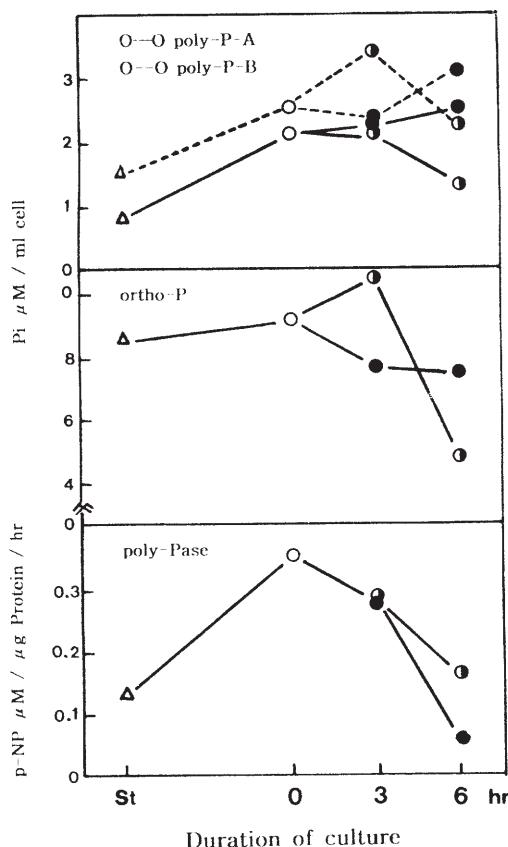


Fig. 1. Changes in amount of acid soluble polyphosphate (poly-P-A), acid insoluble polyphosphate (poly-P-B), ortho-P and in polyphosphatase (poly-Pase) activity in *Serratia marcescens* under variously cultured conditions. △, precultured cell in NB medium for 1 day (St); ○, starved cell (S P, sugar free and phosphate free) upon Knopp's medium for 3 hrs; ●, Pi catabolite depressed cell upon Pi and sugar added Knopp's medium for 6 hrs; ◻, Pi catabolite repressed cell upon Pi free and sugar added Knopp's medium for 6 hrs.

포군을 인산이 결핍된 당첨가 배지 (S^+P^-)로 옮겨 배양한 결과, 3시간 배양시에는 산가용성 무기인산은 증가하나 산불용성 무기인산은 정체하였고, 6시간 배양결과 2가지 형태의 무기인산중합체가 상당히 감소함을 보였다. 이와는 반대로 인산첨가 (S^+P^+) 6시간 배양시에는 산가용성, 산불용성 무기인산중합체 모두 starved 세포군에 비해 증가하는 상반된 경향을 나타내었다.

Ortho-phosphate의 경우, 전배양된 세포군(Start)과 starved 세포군에서는 양적 변화가 거의 없었으나 인산의 첨가 및 제한 배양세포군에서는 그 양상이 다르게 나타났다. 인산첨가세포군 (S^+P^+)은 polyphosphate와는 달리 ortho-P의 함량이 감소하였다. 그러나 인산결핍배양세포군 (S^+P^-)은 3시간 배양시 증가하다 6시간 배양 후에 급격히 감소하였다. 이러한 무기인산 중합체의 양적 변화와 관련하여 polyphosphatase (poly-Pase)의 활성도는 전체적인 무기인산중합체 (poly-P)의 양적 변화와 유사한 경향을 보였다. 즉, starvation 시기 (S^-P^-)에 poly-Pase의 활성도는 약 3배 증가하였다가 당첨가 첨가하여 3시간 배양 (S^+P^+ , S^+P^-)하였을 때 활성도가 점진적으로 감소하였고 특히 인산첨가 6시간 배양세포군의 경우, poly-Pase의 활성도가 starved 세포군에 비해 감소하는 것으로 나타났다. 이러한 결과로 볼 때 당과 인산이 없는 starvation 시기와 같이 영양소와 에너지원이 없는 불균형의 극한 환경에서 poly-Pase 활성도가 증가함을 알 수 있다. 이는 에너지원이 부족한 상태에서 poly-Pase에 의해 무기인산중합체가 분해될 때 생성되는 에너지와 무기인산이 계속적인 세포내 물질대사과정에 공급되었음을 시사한다. 또한 Pi free 상태에서 배양된 세포군 (S^+P^- , 6 hr)이 Pi sufficient 상태로 배양되어진 세포군 (S^+P^+ , 6 hr)에 비하여 효소활성도가 더 높게 유지되는 현상을 보더라도 세포외부에 인산이 결핍되었을 경우 세포내에 저장되어 있던 무기인산 중합체를 분해하여 세포내 물질대사에 필요한 인산기를 계속 공급하고 대처할 수 있다고 사료된다.

효소의 활성도 변화

Poly-Pase와는 달리 p-NPP를 기질로하고 서로 다른 적정 pH를 갖는 ALPase, ACPase, NEPase의 활성도를 살펴보면 (Fig. 2) 전체적으로 전배양된 세포군과 starved 세포군에서 효소활성도는 별 차이가 없는 유사한 경향을 보이나, S^+P^+ , S^+P^- 세포군에서는 모두 급격한 감소를 나타내었다. 이는 poly-P system (poly-P와 poly-Pase)에 의해서 주로 무기인산이 우선적으로 공급되는 상황에서, 혹은 세포내에 인산이 고도로 고갈되는 상황에서, 무기인산 공급과 관련된 이들 ALPase, ACPase, NEPase의 활성도는 감소함을 알 수 있다.

Poly-Pase와 phosphatase (ALPase, ACPase, NEPase)의 전체 실험군에서의 활성도 변화양상은, 외부로부터의 인산 공급이 차단되거나 세포내의 양이 극히

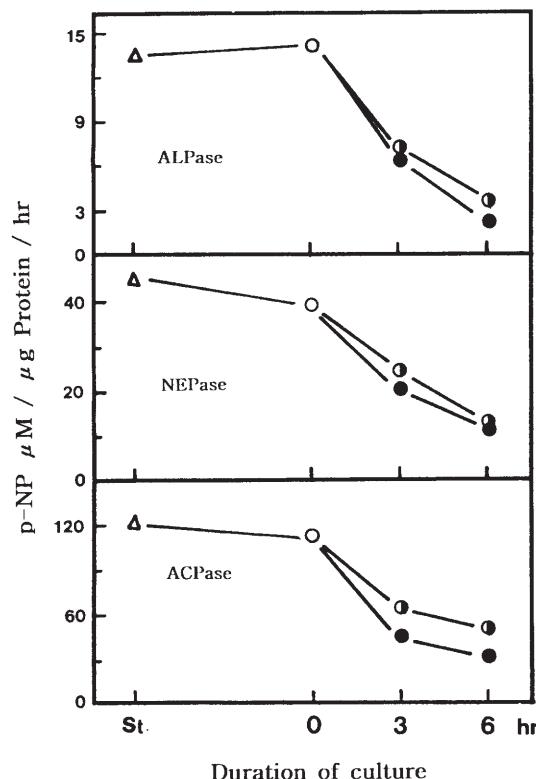


Fig. 2. Changes in activities of ALPase, ACPase and NEPase in *Serratia marcescens* under variously cultured conditions.

The ligand is same as the previous Fig. 1.

적을 때 즉 S^-P^- 세포군에서, 공통적으로 최고활성도를 보였다. 이들의 효소활성도에 의하여 극한 환경에서 poly-P와 유기인산화합물이 분해되고 이 때 생기는 에너지와 인산기를 이용할 것으로 사료된다.

Phosphatase의 무기이온 의존성에 있어 K^+ 에 대해서는 NEPase와 ACPase 모두 100% 의존성으로 나타났고 Mg^{2+} 에 대해서 NEPase는 50%의 의존도를, ACPase는 20%로 나타났다. ALPase는 K^+ , Mg^{2+} 모두에 대해 의존성을 나타내었다.

ALPase의 isoenzyme 양상

Pi catabolite repression/derepression 시켰을 때 전배양 실험군과 starved 실험군에 비하여 전기영동상 미세한 차이를 가진 isoenzyme이 관찰되었다 (Fig. 3). 이러한 결과는 무기인산이 미생물의 phosphatase 생합성에 영향을 미치며 Pi의 농도가 ALPase의 합성에 영향을 미친다는 Bhatti (2)의 연구결과와 일치하며, *E. coli*에서 phosphate starvation에 의해 야기되는 효소의 derepression은 *de novo* enzyme synthesis에 기인 (2)하는 것과 유사하게 *Serratia marcescens*에서도 발생하는 것으로 알 수 있다. 따라서 인산을 결핍배양한 세포에서 나타나는 ALPase의

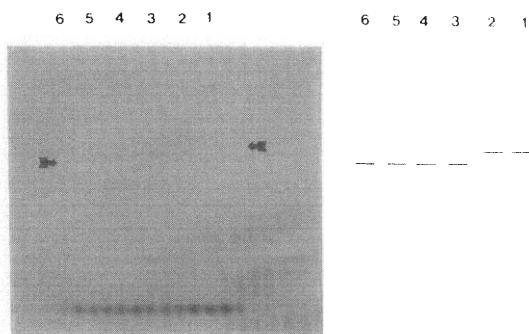


Fig. 3. ALPase isoenzyme pattern by PAGE in *Serratia marcescens*.

Lane 1, St; lane 2, S'P⁺; lane 3, S'P⁺ (3 hrs) cultured cell; lane 4, S'P⁺ (3 hrs) cultured cell; lane 5, S'P⁺ (6 hrs) cultured cell; lane 6, S'P⁺ (6 hrs) cultured cell.

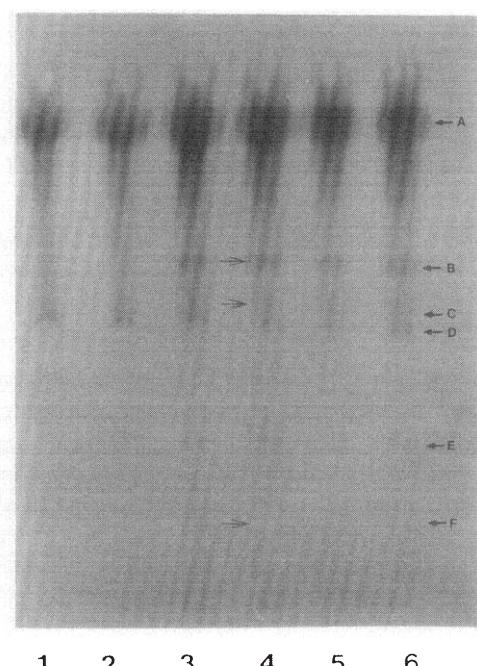


Fig. 4. TLC chromatograms for the pigment separation of *Serratia marcescens* under variously cultured conditions.

Lane 1, St; lane 2, S'P⁺; lane 3, S'P⁺ (3 hrs) cultured cell; lane 4, S'P⁺ (3 hrs) cultured cell; lane 5, S'P⁺ (6 hrs) cultured cell; lane 6, S'P⁺ (6 hrs) cultured cell.

isoenzyme은 Pi starved inducible isoenzyme으로, 당과 인산을 첨가하여 배양된 세포에서 나타나는 isoenzyme은 constitutive isoenzyme으로 유추할 수

있다.

색소의 변화양상

인산의 첨가, 제한 배양에 따른 *Serratia marcescens*의 색소변화양상은 Fig. 4에서와 같이 starved 세포군과 전배양 세포군에서 나타나지 않는 색소 3 가지 (band B, C, F)가 S'P⁺, S'P⁻ 세포군에서 나타났다. 이와 같은 현상은 ALPase의 isoenzyme 분석결과와 밀접한 관계를 보여주며 당과 인산을 결핍시킨 후 최소배지에서 당과 인을 공급하여 배양시킬 때 색소형성이 촉진된다는 사실과 여러 중간 대사산물의 합성이 유도된다는 사실을 발견할 수 있었다. TLC 상의 색소 band를 살펴보면 A는 모든 배양조건에서 관찰되고 많은 양으로 존재하므로 축합이 끝난 prodigiosin으로, B는 pink-violet 색을 띠므로 MBC로, C는 강렬한 색을 띠지 않기 때문에 MAP로 유추해 볼 수 있다. 더 나아가 이를 응용적인 측면에서는 다양한 색상을 지닌 생체색소의 생성조건이 세시된 것이고 기초적인 측면에서는 TLC 상에 전개되어진 spot를 동정하여 MAP와 MBC를 정확히 인지할 수 있을 경우, prodigiosin 색소형성과정에 가장 주된 역활효소인 prodigiosin 축합효소(PCE)의 기질인 MAP와 MBC를 실험실내에서 쉽게 얻을 수 있기에 PCE 활성도의 측정이 용이하며 따라서 색소형성에 관련된 생리대사상태를 정확히 조사할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 연구과제 (873-0407-002-2)의 연구비 지원과 서울대학교 분자미생물학연구센터의 지원에 의한 결과의 일부임.

참 고 문 헌

- Aiking, H., A. Stijman, C. van Garderen, H. van Heerikhuizen, and J. van Treit, 1984. Inorganic phosphate accumulation and cadmium detoxification in *Klebsiella aerogenes* NCTC 418 growing in continuous culture. *Appl. Environ. Microbiol.* **47**: 374-377.
- Bhatii, A.R., M.K. Ijaz, and G.R. Chaudhry, 1990. Multiple forms of alkaline phosphatase isoenzymes of *Serratia marcescens*. *FEMS Microbiol. Lett.* **71**: 111-116.
- Berenblum, I. and E. Chain, 1938. An improved method for the colorimetric determination of phosphate. *J. Biochem.* **30**: 295-298.
- Clark, D.W., J.S. Tkacz, and J.O. Lampen, 1982. Asparagine-linked carbohydrate does not determine the cellular location of yeast vacuolar nonspecific alkaline phosphatase. *An. Soc. Microbiol.* **152**: 865-873.
- Dauenhauer, S.A., R.A. Hull, and R.P. William, 1984. Cloning and expression in *Escherichia coli* of *Serratia marcescens* gene encoding prodigiosin

- biosynthesis. *J. Bacteriol.* **158**, 1128-1132.
6. Ding, M.J. and R.P. William, 1983. Biosynthesis of prodigiosin by white strains of *Serratia marcescens* isolation from patients. *J. Clin. Microbiol.* **17**, 476-480.
 7. Ernst, S.A., 1975. Transport ATPase cytochemistry; Ultrastructural localization of potassium-dependent and potassium-independent phosphatase activities in rat kidney cortex. *J. Cell. Biol.* **66**, 584-608.
 8. Fiske, C.H. and Y. Subbarow, 1925. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.* **66**, 35.
 9. Grimont, P.A.D. and F. Grimont, 1978. Biotyping of *Serratia marcescens* and its use in epidemiological studies. *J. Clin. Microbiol.* **8**, 73-83.
 10. Hughes, D.E., 1971. Methods in microbiology, 5B, p. 27-30. Academic Press, London.
 11. Kulaev, I.S. and G.I. Konoshenko, 1971. Detection and some properties of *Neurospora crassa* polyphosphates hydrolyzing inorganic polyphosphates to orthophosphate. *Biokhimiya* **36**, 1175-1182.
 12. Lee, C.S., S.H. Cho, K.S. Lee, H.K. Shin, and Y.K. Choi, 1981. Effect of the carbon sources on the synthesis of phosphate compounds and respiratory activity of yeast (*Saccharomyces uvarum*) during growth phases. *Kor. J. Microbiol.* **19**, 63-77.
 13. Lee, H.Y., H.B. Cho, and Y.K. Choi, 1984. Studies on the microbial pigment (5): The effect of some detergent on pigment formation in *Serratia marcescens* strain P. *J. Kor. Microbiol.* **22**, 183-190.
 14. Lee, K.S., 1984. Studies in the regulation of phosphate metabolism in yeast (*Saccharomyces uvarum*). Ph.D Thesis, Hanyang University.
 15. Lee, K.S., I.G. Song, Y.S. Park, S.N. Yoon, and Y.K. Choi, 1990. Physio-biochemical changes correlated with cadmium adaptation and detoxification mechanism in *Klebsiella aerogenes*. *Kor. J. Microbiol.* **28**, 249-257.
 16. Lee, K.S., Y.A. Yoo, I.Y. Kwak, Y.S. Park, and Y.K. Choi, 1990. Cadmium detoxification mechanism in *Klebsiella aerogenes* ATCC 10031. *Kor. J. Microbiol.* **28**, 134-144.
 17. Lee, K.S. and Y.K. Choi, 1985. Isoenzyme pattern of alkaline and acid phosphatase in the culture of *Saccharomyces uvarum*. *Kor. J. Microbiol.* **23**, 172-176.
 18. Lee, K.S. and Y.K. Choi, 1985. Studies on the changes on activities of ALPase, ACPase, ATPase and synthesis of volutin granules upon phosphate concentration in *Saccharomyces uvarum*. *Kor. J. Microbiol.* **23**, 84-89.
 19. Lee, K.S. and Y.K. Choi, 1985. Studies on the changes on activities of ATPase, ALPase and ACPase and accumulation of volutin granules upon growth phase in *Saccharomyces uvarum*. *Kor. J. Microbiol.* **23**, 90-100.
 20. Lowe, J.A., Y.M. Chan, and J.C. Tsang, 1987. Investigation of biosynthesis of prodigiosin and condensing enzyme in *Serratia marcescens*: 2. Effects of various transition metal ions. *Microbios*, **51**, 71-80.
 21. Miyachi, S. and H. Tamiya, 1961. Distribution and turnover of phosphate compounds in growing *Chlorella* cells. *Plant and Cell Physiol.* **2**, 415-424.
 22. Onishi, H.R., J.S. Tkacz, and J.O. Lampen, 1979. Glycoprotein nature of yeast alkaline phosphatase. *J. Biol. Chem.* **10**, 11943-11952.
 23. Rubtsov, P.M. and I.S. Kulaev, 1977. Some pathways of polyphosphate biosynthesis and degradation in *Acetabularia mediterranea*. *Biokhimiya* **42**, 1083-1089.
 24. Santer, U.V. and H.J. Vogel, 1956. Prodigiosin synthesis in *Serratia marcescens*: Isolation of a pyrrole-containing precursor. *Biochim. Biophys. Acta* **19**, 578-579.
 25. Silverman, M.P. and E.F. Munoz, 1973. Effect of iron and salt on prodigiosin synthesis in *Serratia marcescens*. *J. Bacteriol.* **114**, 990-1006.
 26. Weinstein, B.I. and H.C. Li, 1975. Stimulation of chromatin template activity by the physiological macromolecule polyphosphate: A possible mechanism for eukaryotic gene derepression. *Arch. Biochem. Biophys.* **175**, 114-120.

(Received November 25, 1994)

(Accepted December 6, 1994)

ABSTRACT: The Effect of Sugar and Inorganic Phosphate upon Prodigiosin Pigmentation in *Serratia marcescens*

Lee, Ki-Sung¹, In-Geun Song, Hong-Bum Cho², Young-Sik Park, and Yong-Keel

Choi* (¹Department of Biology, Pai-Chai University, Daejeon 302-732,

²Department of Biological Engineering, Seokyeong University, Seoul 136-104,

Department of Biology, Hanyang University, Seoul 133-791, and Research

Center for Molecular Microbiology, Seoul National University, Seoul 151-742,

Korea)

The present study was investigated the relationship between prodigiosin pigmentation and accumulation of inorganic poly-phosphate during metabolically repressed and derepressed in *Serratia marcescens*. Precultured cells (S⁻) were starved for 6 hrs in sugar free and phosphate free Knopp's medium (S⁻P⁻). These starved (S⁻P⁻) cells were transferred one part into sugar and phosphate sufficient Knopp's medium (S⁺P⁺) and another part also into sugar sufficient but phosphate free medium (S⁺P⁻), and then cultured 6 hrs. The amounts of acid soluble polyphosphate and acid insoluble polyphosphate were increased in starved cells compared with precultured cells. Upon intracellular accumulation pattern of two types of polyphosphate, S⁺P⁺ cells showed high accumulating amounts of poly-P quite in contrast to S⁻P⁻ cells. Considering the synthesis of pigment, prodigiosin as the secondary metabolite in *Serratia marcescens* was enhanced at the transient phase of sugar and phosphate catabolite repression/derepression. In other word, after starvation upon the S⁻P⁻ medium, shifting S⁻P⁻ cells to S⁺P⁺ and/or S⁺P⁻, synthesis of prodigiosin and its building blocks or derivatives were switched on and were proceeded highly.